

表 6 木霉防治鱼腥草白绢病田间试验
Table 6 Effect of *T. huzirum* on Southern blight
in *H. cordata* in field condition

处 理	发病率/%				防治 效果/%
	I	II	III	平均发病率	
木霉 10 g/m ²	14.23	15.37	15.33	14.98	49.25
木霉 20 g/m ²	12.56	13.11	11.55	11.80	60.28
木霉 30 g/m ²	13.37	12.56	11.95	12.62	57.25
多菌灵	15.06	14.37	14.56	15.66	46.95
甲基托布津	20.25	20.65	21.98	20.96	29.00
井冈霉素	22.21	20.11	22.76	21.69	26.52
对照	28.67	29.37	30.53	29.52	—

该试验结果同时表明,在鱼腥草发病前期使用多菌灵均能有效地减轻鱼腥草白绢病的危害,能明显地降低该病的发病率。本试验使用多菌灵的处理其发病率为 15.66%,比对照低 13.86%,防治效果达 46.95%。

3 讨论

种茎处理试验结果表明,栽种前用多菌灵浸泡种根能推迟白绢病的发病时间和降低发病率,明显地提高产量。室内拮抗实验表明木霉对鱼腥草白绢病菌具有极强的拮抗作用,但不产生抑菌圈,其作用方式并非是产生抗生素,而是木霉菌丝沿病原菌菌丝生长,缠绕在白绢病菌菌丝上生长,有些穿入菌丝内部生长,从而导致病原菌菌丝的死亡。木霉可使菌核消失,具有铲除作用。盆栽试验表明木霉能显著降低鱼腥草白绢病的发病率。田间试验结果表明其防治效果比常用农药好,20 g/m² 就能收到较好的防治效果。但生物制剂的田间防治效果受多种因素的影响,如使用方法、使用时间、施入土层的深度、微生物群落等,因此木霉对鱼腥草白绢病的田间防治还有待于进一步研究。

农药田间试验结果表明,多菌灵能有效地减轻鱼腥草白绢病的危害,明显地提高产量。在鱼腥草发

病初期施多菌灵可湿性粉剂 3 次,间隔 10 d,能有效地防治白绢病,但其药效的发挥受农药的使用方法、浓度、施用时的气候状况及施药时间等多种因素的影响,因此在施用时必须选择好施药时期、天气和正确的施用方法,才能保证药效的发挥,减轻鱼腥草白绢病的危害。

根据鱼腥草白绢病的初侵染源、发生发展规律及传播途径,可以采用一些相应的农业防治措施。精选无病健壮的种茎栽植,可有效地控制初侵染源,降低田间发病率;实行轮作尤其是水旱轮作可减少土壤带菌;加强栽培管理,清洁田园,注意灌溉和排水,合理施肥及做好越冬防寒工作;同时加强地下害虫防治工作也可有效减轻病害。

综上所述,要有效地防治鱼腥草白绢病,必须采用农业、生物和化学方法相结合的综合防治措施。

References:

[1] Chen Z Y. Development, viralization, and cultivation methods of heartleaf *Houttuynia* Herb [J]. *Develop Agric Anim Prod* (农牧产品开发), 1997 (7): 14.
[2] Yin B L. Cultivation and development of Heartleaf *Houttuynia* Herb [J]. *China Local Econom Prod* (中国土特产), 1997 (3): 12-13.
[3] Wan H Z. Effect of a properly prepared fungi-manure for the prophylaxis of *Sclerotium rolfsii* in cultivating *Atractylodes macrocephala* [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2000, 31 (7): 546-547.
[4] Li L. *Richoderma huzianum* as a biocontrol agent for Southern Blight of Jasmine [J]. *Chin J Biol Control* (生物防治通报), 1985, 1 (1): 19-21.
[5] Ding W L, Chen H Z, Zhang G Z, et al. *Richoderma* as biocontrol for damping-off of *Panax quinquelium* [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1994, 25 (2): 91-92.
[6] Ding W L, Chen H Z, Zhang G Z, et al. Application of *Richoderma* to prevention diseases of medicinal plants [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1997, 28 (8): 505-507.
[7] Fang Z D. *Research Methods of Plant Diseases* (植病研究方法) [M]. Beijing: China Agriculture Publishing House, 1998.
[8] Rong T Z, Li W C, Wu Y S, et al. *Field Experiment and Statistics Analysis* (田间实验与统计分析) [M]. Chengdu: Sichuan University Publishing House, 2001.

毛脉酸模药材质量标准研究

王振月,左月明,康毅华,崔红花,李瑞明
(黑龙江中医药大学药学院,黑龙江 哈尔滨 150040)

摘要:目的 制定毛脉酸模药材质量标准,为该药用植物资源的开发利用提供科学依据。方法 生药学研究,浸出物测定法,灰分测定法,水分测定法,薄层色谱法及 HPLC 色谱法。结果 对毛脉酸模的性状、显微特征进行了描

收稿日期:2005-02-24
基金项目:国家自然科学基金资助项目(30270156);黑龙江省科学技术计划项目(G00C202301)
作者简介:王振月(1956—),男,黑龙江中医药大学硕士生导师,主要从事中药资源开发与生物技术研究。Tel: (0451) 82196254
E-mail: wangzhen_yue@163.com

述;对14个不同产地毛脉酸模的浸出物、总灰分、酸不溶性灰分和水分的测定;同时进行了薄层定性鉴别和HPLC色谱的定量研究。结论 通过研究制定了毛脉酸模的质量控制标准。

关键词:毛脉酸模;质量标准;TLC;HPLC

中图分类号:R282.02

文献标识码:B

文章编号:0253-2670(2005)12-1875-05

Criteria of quality control for root of *Rumex gmelini*

WANG Zhen-yue, ZUO Yue-ming, KANG Yi-hua, CUI Hong-hua, LI Rui-ming

(College of Pharmacy, Heilongjiang University of Traditional Chinese Medicine, Harbin 150040, China)

Abstract; Objective To provide scientific basis for the utilization and development of *Rumex gmelini* by setting up the quality control criteria of *R. gmelini*. **Methods** The pharmacognostical methods were employed. The extract of *R. gmelini* was examined. Moisture and ash were determined. And the bioactive constituents were analyzed by TLC and HPLC. **Results** The morphological and histological characters of *R. gmelini* were observed. Content of extract, total ash, acid-insoluble ash, and moisture of 14 samples from different habitats were determined. The qualitative and quantitative analysis by TLC and RP-HPLC (DAD) were performed, respectively. **Conclusion** The methods developed in this experiment can be used for the quality control of *R. gmelini*.

Key words: the root of *Rumex gmelini* Turcz. ex Ledeb.; quality criteria; TLC; HPLC

毛脉酸模 *Rumex gmelini* Turcz. ex Ledeb. 为蓼科酸模属植物,民间药用根。毛脉酸模为多年生草本植物,味酸苦性寒,入心、肺、膀胱经等。该植物广泛分布于黑龙江省大小兴安岭及张广才岭东部山区,资源十分丰富。临床上对淋病、上呼吸道感染、癣和疮毒有确切疗效^[1,2]。抑菌实验结果显示,根部粉末水浸液(1 mL 相当于原药材 1 g)对金黄色葡萄球菌的抑菌效果仅次于土霉素;对乙型链球菌的抑菌效果与土霉素相同。目前国内对毛脉酸模的研究仅限于笔者的系列研究,研究表明毛脉酸模根中含有白藜芦醇苷、白藜芦醇、大黄酚、大黄素等多种有效成分^[3~5]。为了更好地开发利用这一植物资源,本实验对14个不同产地样品从药材性状、显微特征、浸出物、总灰分、酸不溶性灰分和水分的测定,采用TLC法和HPLC法进行了定性、定量研究,为制定毛脉酸模的质控标准、开发新药奠定了基础。

1 仪器、试药与样品

高效液相色谱仪(Waters 2996/Waters 2695型);Mettler 电子天平(瑞士);高温炉 RJM-2.8-10(沈阳市电炉厂);硅胶G(青岛海洋化工厂生产)。对照品:大黄素、大黄酚、大黄素甲醚(购自中国药品生物制品检定所);白藜芦醇苷、白藜芦醇(购自美国Sigma公司);酸模素由笔者从药材中分离得到,质量分数达98%以上。14个不同产地毛脉酸模采自黑龙江省各林区(表1)和黑龙江中医药大学药用植物园,并经笔者鉴定为 *R. gmelini* Turcz.。

2 药材性状、显微特征

2.1 性状:根茎短缩簇生多数粗根,根表面红棕色,

外皮有纵皱纹,类长圆柱形,分枝甚少,长5~20 cm,直径0.2~1.5 cm,质脆,易折断,断面不平坦,表面黄白或淡棕色,形成层环不明显。老根表面颜色较深,断面棕红色,形成层环明显呈黄色,有的髓部中空(老根)。气微,味微甘。

2.2 显微特征:草酸钙簇晶甚多,棱角大多短钝,少有长尖或细尖,有的棱角边缘不清楚,大小不一,直径10~55 μm ;导管以具缘纹孔和梯纹导管多见;木栓细胞表面观呈多方形,细波状弯曲。

3 浸出物、总灰分、酸不溶性灰分和水分的测定

3.1 测定方法:浸出物测定参照《中国药典》2005年版(一部)附录XA浸出物测定法,采用热浸法测醇溶性浸出物;总灰分、酸不溶性灰分测定参照《中国药典》2005年版(一部)附录IXK灰分测定法;水分测定是参照《中国药典》2005年版(一部)附录IXH水分测定法(烘干法)^[6]。

3.2 测定结果:不同产地样品的浸出物、总灰分、酸不溶性灰分和水分的测定结果见表1。

4 薄层色谱鉴定

4.1 对照品溶液的制备:分别称取大黄素、大黄酚、大黄素甲醚对照品各0.2 mg,加甲醇制成0.2 mg/mL的对照品溶液。

4.2 供试品溶液的制备:取14个不同产地毛脉酸模样品各0.05 g,加氯仿7 mL,超声处理20 min,滤过,滤液挥发至2 mL,作为供试品溶液。

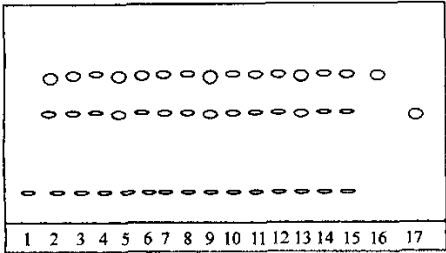
4.3 薄层色谱条件及结果:吸取上述供试品和对照品溶液各20 μL ,分别点于同一硅胶G薄层板上,用石油醚(30~60 $^{\circ}\text{C}$)-甲酸乙酯-甲酸(15:5:1)的

表 1 14 个不同产地毛脉酸模样品中各检查项的测定结果

Table 1 Results of examining items of root of *R. gmelini* from 14 different habitats

样品号	药材来源	浸出物/%	总灰分/%	酸不溶性灰分/%	水分/%	样品号	药材来源	浸出物/%	总灰分/%	酸不溶性灰分/%	水分/%
1	大兴安岭新林	47.96	10.89	1.14	5.41	8	尚志市帽儿山	54.99	8.98	0.27	2.83
2	大兴安岭加格达奇	52.72	10.01	0.18	2.47	9	伊春市翠峦	46.32	8.62	0.28	4.35
3	大兴安岭塔河	40.24	10.70	1.04	6.52	10	伊春市红星区	47.24	7.50	0.21	3.75
4	桃山跃进	55.49	7.61	0.17	2.91	11	伊春市上甘岭	49.86	9.18	0.91	3.24
5	桃山神树	49.71	10.83	1.23	7.13	12	伊春市新青桦林	48.35	9.65	0.97	4.21
6	绥棱北股流	50.12	12.00	1.13	3.16	13	药圃(1年生)	50.88	7.12	0.33	6.78
7	绥棱义气松	50.79	8.43	0.98	6.85	14	药圃(2年生)	52.07	7.38	0.30	5.62

上层溶液为展开剂,展开,取出,晾干,置紫外光灯(365 nm)下检视。供试品色谱中,在与对照品色谱相应的 $R_{f(大\text{黄}素)} = 0.41$, $R_{f(大\text{黄}素\text{甲}醚)} = 0.73$, $R_{f(大\text{黄}酚)} = 0.82$ 位置上,显相同颜色的荧光斑点(图 1);置氨蒸气中熏后,日光下检视,斑点变为红色。



1-大黄素 2~15-毛脉酸模 16-大黄酚 17-大黄素甲醚
1-emodin 2~15-*R. gmelini* 16-chrysophanol 17-phycion

图 1 不同产地毛脉酸模的 TLC 图(365 nm)

Fig. 1 TLC chromatogram of *R. gmelini* from different habitats (365 nm)

5 有效成分的测定

5.1 色谱条件:Planetsil C_{18} (200 mm×4.6 mm, 5 μ m); 体积流量 1.0 mL/min; 柱温 35 $^{\circ}$ C; 测定白藜

芦醇苷、白藜芦醇的流动相为乙腈-水(20 : 80), 检测波长为 303 nm; 测定大黄素、大黄酚、大黄素甲醚的流动相为甲醇-0.1%磷酸(80 : 20), 检测波长为 254 nm; 测定酸模素的流动相为甲醇-0.1%磷酸梯度洗脱; 检测波长为 225 nm。

5.2 对照品溶液的制备:精密称取白藜芦醇苷、白藜芦醇、酸模素、大黄素、大黄酚、大黄素甲醚对照品适量,加甲醇使溶解,分别制成每毫升各含 0.50、0.09、0.22、0.13、0.19、0.05 mg 的对照品溶液。

5.3 供试品溶液的制备:精密称取不同产地毛脉酸模药材粉末(过 80 目筛)各 0.25 g,置索氏提取器内,加 50%乙醇 65 mL 提取 4 h,滤过,滤液蒸干,残渣加甲醇使溶解,转移至 25 mL 量瓶中,定容至刻度,过 0.45 μ m 的微孔滤膜,弃去初滤液取续滤液作为供试品溶液。

5.4 标准曲线的制备:分别取上述 6 种对照品溶液,以 5.1 项色谱条件分别按不同进样体积注入液相色谱仪。以进样量(μ g)为横坐标,峰面积为纵坐标绘制标准曲线,回归方程及线性范围见表 2,各成分均呈良好的线性关系。

表 2 毛脉酸模中 6 种有效成分的线性方程

Table 2 Linear equations of six kinds of active constituents in root of *R. gmelini*

对照品	进样体积/ μ L	回归方程	r	线性范围/ μ g
白藜芦醇苷	5、9、12、15、20	$Y=1\,391\,142+2\,512\,776\,X$	0.999 5	2.50~10.00
白藜芦醇	1、2、5、10、15、20、25	$Y=-270\,004.4+7\,077\,283\,X$	0.999 8	0.09~2.25
酸模素	1、2、5、10、15	$Y=-192\,759.7+9\,487\,116\,X$	0.999 9	0.22~3.30
大黄素	1、2、5、8、12、15	$Y=-20\,814.84+2\,908\,023\,X$	0.999 9	0.13~1.95
大黄酚	1、2、5、8、12、15	$Y=-82\,737.16+6\,067\,131\,X$	0.999 9	0.19~2.85
大黄素甲醚	1、2、5、8、12、15	$Y=12\,190.53+2\,833\,881\,X$	0.999 9	0.05~0.75

5.5 精密度试验:精密吸取上述 6 种对照品溶液,分别重复进样 5 次,以 5.1 项色谱条件分析测定,白藜芦醇苷、白藜芦醇、酸模素、大黄素、大黄酚、大黄素甲醚的峰面积的 RSD 分别为 1.59%、2.33%、1.63%、0.43%、1.93%、1.44%。

5.6 稳定性试验:精密吸取 6 种对照品溶液,分别间隔 4 h 重复进样 7 次,以 5.1 项色谱条件分别测定,6 种成分峰面积的 RSD 分别为 1.95%、1.91%、

1.89%、1.80%、0.46%、2.05%,表明各成分在 24 h 内保持稳定。

5.7 重现性试验:取 13 号药材样品 5 份,以 5.1 项色谱条件分别测定,6 种成分峰面积的 RSD 分别为 1.77%、0.90%、2.56%、1.68%、0.87%、1.85%。

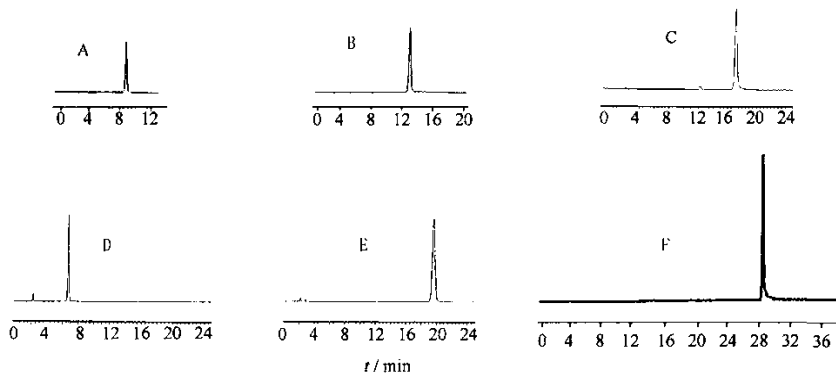
5.8 加样回收率试验:精密称取已知含量的 13 号药材样品 5 份,分别精密加入不同量的 6 种对照品,按含量测定方法测定,计算回收率,6 种成分平均回

收率分别为 100.34%、99.84%、99.23%、103.30%、99.62%、99.28%，RSD 分别为 1.46%、2.17%、2.07%、1.31%、1.69%、2.61%。

5.9 样品测定：取 14 个不同产地的毛脉酸模药材的供试品溶液各 20 μ L，注入液相色谱仪，按 5.1 项色谱条件分别测定，色谱图见图 2、3，测定结果见表 3。

表 3 毛脉酸模中 6 种有效成分的测定结果 (n=3)

Table 3 Determination of six kinds of active constituents in root of <i>R. gmelini</i> (n=3)													
样品号	白藜芦醇苷/%	白藜芦醇/%	酸模素/%	大黄素/%	大黄酚/%	大黄素甲醚/%	样品号	白藜芦醇苷/%	白藜芦醇/%	酸模素/%	大黄素/%	大黄酚/%	大黄素甲醚/%
1	1.800	0.697	2.132	0.692	1.185	0.298	8	1.180	1.177	0.885	0.683	1.154	0.286
2	1.895	0.348	0.322	0.220	0.595	0.102	9	4.281	0.052	0.113	0.205	0.395	0.118
3	1.755	0.084	0.109	0.074	0.331	0.052	10	2.709	0.057	0.027	0.148	0.333	0.100
4	0.432	0.719	0.623	0.508	0.823	0.271	11	2.534	0.049	0.125	0.146	0.331	0.081
5	2.452	0.330	0.314	0.206	0.471	0.124	12	4.195	0.072	0.070	0.329	0.700	0.142
6	5.425	0.022	0.140	0.207	0.392	0.130	13	2.196	0.048	0.093	0.080	0.328	0.048
7	3.379	0.118	0.153	0.274	0.709	0.166	14	3.070	0.062	0.120	0.052	0.144	0.037



A-大黄素 B-大黄酚 C-大黄素甲醚 D-白藜芦醇苷 E-白藜芦醇 F-酸模素
A-emodin B-chrysophanol C-physcion D-polydatin E-resveratrol F-nepodin

图 2 对照品的 HPLC 色谱图

Fig. 2 HPLC chromatograms of reference substances

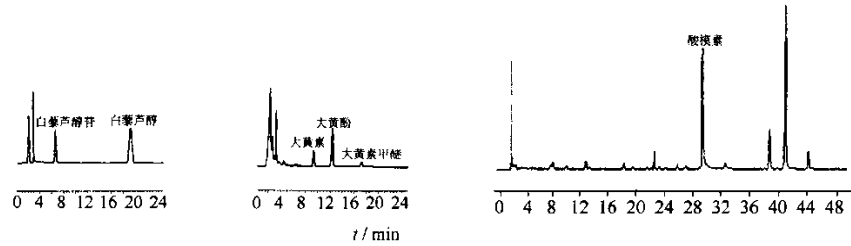


图 3 尚志市帽儿山产毛脉酸模中 6 个成分的 HPLC 图谱

Fig. 3 HPLC chromatograms of six kinds of active constituents in root of *R. gmelini* grown in Mao'e Mountain of Shangzhi City

6 讨论

6.1 对于性状、显微特征，文中所作描述能较好地与同属易混淆品种洋铁叶酸模相区分，详见文献报道^[7]；与同属其他品种的区别见文献报道^[8]。

6.2 由表 1 可知，建议毛脉酸模药材各指标范围可控制在：浸出物量不低于 45.0%，总灰分不得超过 12.0%，酸不溶性灰分不得超过 2.0%，水分量应低于 10.0%，此结论可作为制定毛脉酸模药材质量标

准的参考依据。

6.3 薄层色谱结果表明，14 个不同产地毛脉酸模样品中，均采用薄层色谱法，检出大黄素、大黄酚、大黄素甲醚 3 种蒽醌类成分，斑点清晰且方法简便、快速、可行，故此方法可作为毛脉酸模药材的定性鉴别依据。

6.4 从表 3 测定结果来看，药圃栽培的 13、14 号样品中除白藜芦醇苷量与采自各林区样品量相仿外，

其余5种成分量均低于各林区样品量,说明药材野生变家种过程中存在成分量的差异,可能是有效成分在植物体内生物合成和积累与年限、生态环境的影响因素有关,从而提示要进一步研究药材的标准化种植技术,为大量生产优质原药材奠定基础。不同产地药材中的6种成分之间白藜芦醇苷和白藜芦醇二者量有互为消涨的趋势,待进一步验证;而其他成分的变化趋势不明显。从以上结果可以看出,中药材质量标准的确定是一项复杂的工作,仅以一种有效成分的量目前难以全面反映中药材质量,而多种成分量的测定又受到缺少对照品的影响,因而现阶段,指纹图谱的研究给药材质量标准的确定带来了更科学的客观评价指标。

6.5 中药材质量标准的最终制定应从形态、解剖、化学、药效和分子标记等多方面进行比较,才能客观地进行评价。

References:

- [1] Liu S T, *Herb Flora of Chinae Boreali-Orientalis* (东北草本植物志) [M]. 2nd ed. Beijing: Science Press, 1959.
- [2] Jilin Institution of Traditional Chinese Medicine. *Flora of Changbaishan* (长白山植物志) [M]. Changchun: Jilin People's Publishing House, 1982.
- [3] Wang Z Y, Cai X Q, Kang Y H. Structure of two compounds from the root of *Rumex gmelini* [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1996, 27 (12): 714-716.
- [4] Kang Y H, Wang Z Y, Li J K, et al. Isolation and identification of two anthraquinones from *Rumex gmelini* Turcz. [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 1996, 21 (12): 741-742.
- [5] Wang Z Y, Li Y B, Kuang H X. Isolation and identification of rhein and emodin [J]. *Acta Chin Med Pharm* (中医药学报), 1996, 24 (2): 54.
- [6] *Ch P* (中国药典) [S]. Vol 1. 2000.
- [7] Wang Z Y, Du S B, Kang Y H. Pharmacognostical studies on *Radix Rumex Gmelini*. [J]. *Acta Chin Med Pharm* (中医药学报), 1994 (6): 52-54.
- [8] Wang Z Y, Wang Y Z, Wang Y. Studies on the microscopical structures of eight species Chinese medicine from *Rumex* root [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1999, 30 (11): 855-859.

穿龙薯蓣最佳采收期的研究

刘丽娟¹, 金德祥², 牛志多³, 徐国经³

(1. 通化师范学院 生物系, 吉林 通化 134002; 2. 吉林永利药业有限公司, 吉林 白山 134300; 3. 吉林省中医中药研究院, 吉林 长春 130021)

穿龙薯蓣 *Dioscorea nipponica* Makino 别名穿地龙、穿龙骨、穿山龙, 为薯蓣科薯蓣属多年生缠绕性草本植物, 属道地北药, 以根茎入药, 主要药用成分为薯蓣皂苷(dioscin)及水解后产生的薯蓣皂苷元(diosgenin)^[1], 后者是合成各种避孕药和甾体激素类药物的重要原料, 其本身有肝脏保护^[2]、抑制癌细胞增殖^[3]、治疗骨质疏松^[4]、抗糖尿病和消炎等功能^[5,6]。近年来, 由于国内外合成甾体激素类药物的迅速发展, 对穿龙薯蓣的需求量日益增加, 野生资源已不能满足生产需求, 人工驯化与栽培正在广泛兴起。笔者已对穿龙薯蓣氮、磷、钾养分变化规律进行了研究^[7], 最近又进行了一个生长季内和不同年生穿龙薯蓣根茎内有效成分变化规律的研究, 目的是探索一年内的最佳采收月份和最佳采收年限, 以摸索最佳采收期。

1 仪器、试剂与材料

1.1 仪器与试药: 高效液相色谱仪: 岛津 LC—

10AT 高效液相色谱仪; 检测器: SPD-10A 紫外检测器; 手动进样。所用试剂均为色谱纯和分析纯。对照品薯蓣皂苷元(批号: 111572-200301)购于中国药品生物制品检定所, 供测定用。

1.2 材料: 样品采自吉林省靖宇县, 种栽经吉林省中医中药研究院徐国经鉴定为当地野生种穿龙薯蓣 *D. nipponica* Makino 的根状茎。在人工栽培基地中, 分别选生长1~4年的地块, 每个样品随机取3~4点, 整株挖出, 进行不同年生穿龙薯蓣根茎内有效成分变化规律研究; 另外, 从4月初开始在人工栽培基地每个月的月初取样一次, 连续取到9月初, 共计6个样品; 取样时将地下根茎全部挖出, 每个样品选3点, 整株挖出, 所有样品去泥土和须根, 切成1.5~2 cm 的小段, 烘干后备用。

2 方法

2.1 供试品溶液的制备: 取本品粉末约1 g, 置圆底烧瓶中, 加1.5 mol/L 硫酸9 mL, 异丙醇21 mL, 于